

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07757

研究課題名(和文) 3D オルガノイド法を用いたがんゲノム個別化医療スクリーニングシステムの開発

研究課題名(英文) Development of a cancer genome personalized medicine screening system using the 3D organoid method.

研究代表者

高石 官均 (Takaishi, Hiromasa)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・教授

研究者番号：80286468

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝子解析結果に基づいた分子標的薬や抗体薬を主体とする癌治療が主流になってきている。これらの薬剤は効果が大きい反面、非常に高額であるため精度の高い治療効果予測が必要である。治療効果を正確に予測するため、近年注目されている3次元細胞培養系を用いた薬剤スクリーニング法を研究開発することが本研究の目的である。

本研究により5種の癌種、503症例に対し271種類のオルガノイド細胞株の樹立に成功し、培養方法の改良により2021年度には樹立成功率89.5%を達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により得られた知見は、オルガノイド細胞株を用いた研究の根幹を成すものであり、複数癌種において9割近い樹立成功率は世界的に見ても非常に高い水準であり、オルガノイドを用いた癌研究の根幹となる技術である。今後、これらのオルガノイド細胞株を用いて薬剤効果予測および耐性化予測に向けて解析を進めていく予定です。

今後、効率的に個々人に有効な薬剤を選択し、また耐性化を防ぐことで、医療資源の効率的な使用が可能になり、現代日本における大きな社会課題である医療費の削減に向けて、重要な知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：Cancer therapies based on molecular targeted drugs and antibody drugs based on the results of genetic analysis are becoming mainstream. While these drugs are highly effective, they are also extremely expensive, so accurate prediction of treatment efficacy is necessary. The purpose of this study is to research and develop a drug screening method using a 3D cell culture system, which has been the focus of much attention in recent years, in order to accurately predict therapeutic efficacy.

Through this research, we succeeded in establishing 271 different organoid cell lines for 503 cases of 5 different cancer types, and achieved an establishment success rate of 89.5% in FY2021 by improving the culture method.

研究分野：消化器癌

キーワード：オルガノイド 癌ゲノム 薬剤スクリーニング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

次世代シーケンサーによる遺伝子解析 (Next Generation Sequencing: 以下NGS) を用いた精密医療が急速に進んでおり、遺伝子解析結果に基づいた分子標的薬や抗体薬を主体とする治療が主流になってきている。これらの薬剤は効果が大きい反面、非常に高額であるため精度の高い治療効果予測が必要である。治療効果を正確に予測するため、近年注目されている 3 次元細胞培養系を用いた薬剤スクリーニング法を研究開発することが本研究の目的である。

2. 研究の目的

がんの遺伝子変異情報に基づく標的薬物療法を行っても、その治療効果は限定的であることも多く、効果予測モデルの構築が切望されている。その理由の一つとして、これまでの効果予測モデルの環境と人間の生体周囲環境の乖離が大きいことが想定されている。近年、生体周囲環境を模倣できる培養系として、「3D オルガノイド法」が着目されている。3D オルガノイド法を用いて、分化した組織の複雑な空間的パターンを再現することにより、生体周囲環境により類似した環境を作成することが可能となり、標的薬剤による治療効果を高精度でスクリーニングすることが可能になると考えられる。慶應義塾大学医学部では、がん手術患者全例に対して、160 遺伝子のパネル検査を行っており、本研究では、遺伝子解析結果を元に標的遺伝子を定め、3D オルガノイド法を用いた事前効果予測を行うことにより、次世代の個別化医療に繋げることを目標とする。

3. 研究の方法

研究全体の中心的目標は臨床・癌遺伝子解析・薬剤効果予測を合わせた次世代包括的診断システムである。この目標を達成するために研究段階を以下の4つのPhaseに分けて研究を行った。

Phase0: 網羅的癌パネル検査

Phase1: 小規模検討による 3D organoid 細胞株を用いた個別化薬剤スクリーニングのテストラン

Phase2: 大規模検討による個別化薬剤スクリーニングシステムの確立

Phase3: 薬剤耐性化の予測及び耐性獲得後の再薬剤スクリーニング

4. 研究成果

2019年度から2022年度まで合計、5癌種、503症例に対し細胞株樹立を試み、271種類のオルガノイド細胞株の樹立に成功した(成功率 53.9%)。消化器癌は正常粘膜 117 検体中樹立に成功したものは 67 検体 (57.3%)、腫瘍部は 120 検体中樹立に成功したものは 81 検体 (67.5%)。頭頸部癌は正常上皮 21 検体中樹立に成功したものは 13 検体 (61.9%)、腫瘍部は 46 検体中樹立に成功したものは 22 検体 (47.8%)、乳癌は正常上皮 53 検体中樹立に成功したものは 6 検体 (11.3%)、腫瘍部については 58 検体中樹立に成功したものは 40 検体 (69.0%)、脳腫瘍は腫瘍 49 検体中樹立に成功したものは 29 検体 (59.2%)、であった。網羅的遺伝子解析については全検体について問題なく遺伝子パネル解析を施行し遺伝子変異情報を全ての検体について獲得できた。年度別の細胞株樹立成功率を下グラフに示す。

2019年度および2020年度では、樹立成功率はそれぞれ 42.0%、63.9%であり樹立成功率を高めることがオルガノイド細胞株を用いた薬剤感受性試験のボトルネックとなっていた。そこで、培養する際の培養液の成分を見直し再検討した結果、2021年度には 89.5%まで高めることができた。特に消化器癌(大腸癌、膵臓癌)に関しては特に高い樹立成功率を達成した。樹立した細胞株を用いて下表1のように薬剤スクリーニングを行なった。スクリーニングの結果は現在解析中であるが、今後解析を進めて治療効果予測および薬剤耐性化予測に向けて新規スクリーニング系を構築する予定である。

本研究により得られた知見は、オルガノイド細胞株を用いた研究の根幹を成すものであり、複数癌種において 9 割近い樹立成功率は今後、オルガノイドを用いた研究を大きく発展させる可能性がある重要な知見を得られた。

年度別オルガノイド細胞株樹立成功率

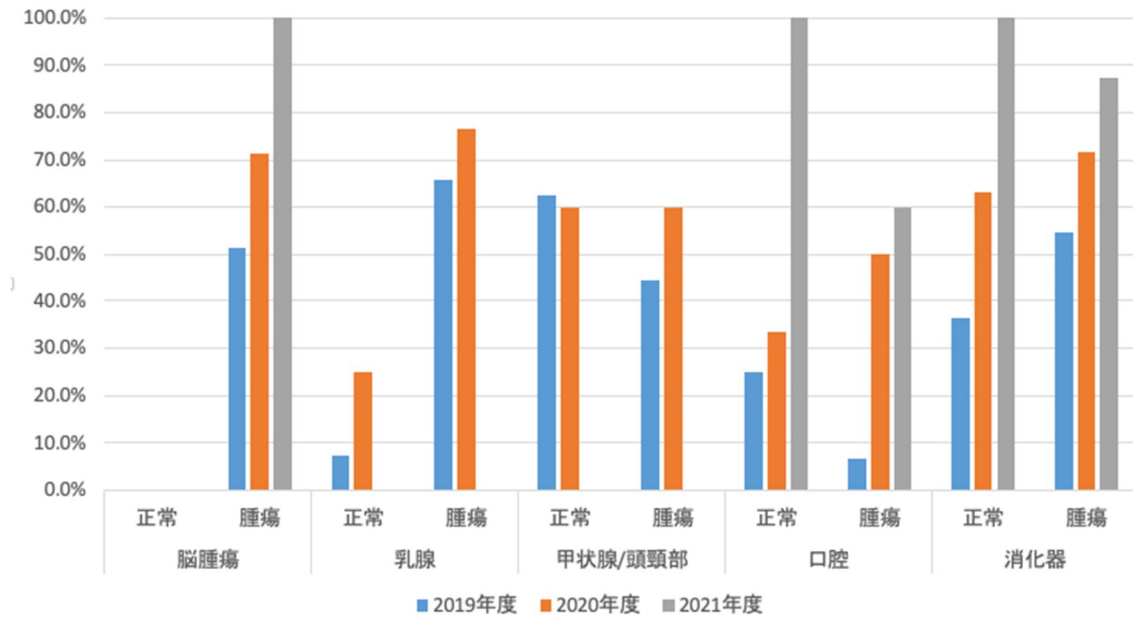


表 1 オルガノイド細胞株を用いた薬剤感受性試験一欄

癌種	対象薬剤
乳癌	シスプラチン、オキサリプラチン、カルボプラチン、フルオロウラシル
乳癌	フルオロウラシル、エナシデニブ、テムシロリムス、ゲムシタピン、シスプラチン、ハラヴェン、パクリタキセル、イリノテカン、イマチニブ、カドサイラ、カルボプラチン、カベシタピン、トラメチニブ
転移性脳腫瘍	フルオロウラシル、ドキシソルピシン
大腸癌	オキサリプラチン、イリノテカン、シスプラチン、カルボプラチン
大腸癌	Kras 阻害剤 3 種類
大腸癌	Kras 阻害剤 3 種類
大腸癌	Kras 阻害剤 3 種類
膵癌	パクリタキセル、テムシロリムス
膵癌	Kras 阻害剤 3 種類
膵癌	Kras 阻害剤 3 種類
甲状腺正常	レンバチニブ、ソラフェニブ
甲状腺正常	レンバチニブ、ソラフェニブ
甲状腺癌	レンバチニブ、ソラフェニブ
甲状腺癌	ソラフェニブ
膠芽腫	テモゾロミド、オキサリプラチン、カルボプラチン、エベロリムス、オラパリブ、シスプラチン
膠芽腫	テモゾロミド、ドキシソルピシン、ピンクリスチン、エベロリムス、テムシロリムス、パルボシクリブ、シスプラチン
膠芽腫	シスプラチン、ドキシソルピシン、ピンクリスチン、テモゾロミド
胃癌	オキサリプラチン、イリノテカン、オラパリブ、シスプラチン、カルボプラチン

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	加藤 容崇 (Kato Yasutaka) (00708878)	社会医療法人北斗北斗病院 (腫瘍医学研究所)・特任研究員・特任研究員 (90102)	
研究分担者	西原 広史 (Nishihara Hiroshi) (50322805)	慶應義塾大学・医学部 (信濃町)・教授 (32612)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関